



培菌白蚁菌圃微生物降解木质纤维素的研究进展

梁世优¹, 王成盼¹, 殷学杰¹, 李鸿杰^{1,2}, 莫建初^{1,*}

(1. 浙江大学昆虫科学研究所, 农业部农业昆虫学重点实验室, 杭州 310058;

2. Department of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison, Madison WI 53706, USA)

摘要: 白蚁及其共生微生物协同降解植物细胞壁的机理一直被世界各国科学家所关注。培菌白蚁作为高等白蚁, 相比低等食木白蚁具有更多样化的食性, 其利用外共生系统“菌圃”, 对多种植物材料进行处理。本文综述了菌圃微生物降解木质纤维素的研究进展, 以期为深入研究菌圃中木质纤维素降解过程及其机制, 并挖掘利用菌圃降解木质纤维素的能力及仿生模拟菌圃开发新的生物质利用系统提供参考。培菌白蚁在其巢内利用由植物材料修建的多孔海绵状结构——“菌圃”来培养共生真菌鸡枞菌 *Termitomyces* spp., 形成了独特的木质纤维素食物降解和消化策略, 使木质纤维素在培菌白蚁及其共生微生物协同作用下被逐步降解。幼年工蚁取食菌圃上的共生真菌菌丝组成的小白球和老年工蚁觅得食物并排出粪便堆积到菌圃上成为上层菌圃。这一过程中, 被幼年工蚁取食的共生真菌释放木质素降解酶对包裹在植物多糖外部的木质素屏障进行解聚。菌圃微生物(包括共生真菌)对解聚的木质素基团进一步降解, 将多糖长链或主链剪切成短链, 使菌圃基质自下而上被逐步降解。最后下层的老熟菌圃被老年工蚁取食, 其中肠的内源酶系及后肠微生物将这些短链进一步剪切和利用。因此, 蚁巢菌圃及其微生物是培菌白蚁高效转化利用木质纤维素的基础。化学层面的研究表明, 菌圃能够实现对植物次生物质解毒和植物纤维化学结构解构。对共生真菌相关酶系的研究显示可能其在菌圃的植物纤维化学结构和植物次生物质的降解中发挥了作用, 但不同属共生真菌间其效率和具体功能不尽相同。而菌圃中的细菌是否发挥了作用和哪些细菌类群发挥了作用等仍有待进一步的研究。相比于低等食木白蚁利用其后肠共生微生物降解木质纤维素, 培菌白蚁利用菌圃降解木质纤维素具有非厌氧和能处理多种类型食物两大优势, 仿生模拟菌圃降解木质纤维素的机制对林地表面枯枝落叶的资源化利用具有重要意义。

关键词: 培菌白蚁; 菌圃; 微生物; 木质纤维素; 共生真菌

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2019)11-1325-10

Advances in the degradation of lignocellulose by microbes in fungus combs of fungus-cultivating termites

LIANG Shi-You¹, WANG Cheng-Pan¹, YIN Xue-Jie¹, LI Hong-Jie^{1,2}, MO Jian-Chu^{1,*} (1. Ministry of Agriculture Key Laboratory of Agricultural Entomology, Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison, Madison WI 53706, USA)

Abstract: The mechanism that termites and their symbiotic microorganisms synergistically degrade the lignocellulose-rich cell wall of plant has been well noticed and investigated by scientists around the world. Higher termites with fungus-cultivating ability have more diverse diets than lower termites. In this article, we reviewed the advances in the degradation of lignocellulose by microbes in fungus combs, so as to

provide some references for a better understanding of the process and mechanism of the lignocellulose degradation in fungus combs, exploring the lignocellulose-degrading capacity of fungus combs, and developing biomimetic system of fungus combs to utilize biomass. Fungus-cultivating termites rely on the external symbiotic system, fungus combs, to degrade diverse plant materials. Fungus-cultivating termites cultivate their symbiotic fungi, *Termitomyces* spp., on the spongy structure, fungus combs built by plant materials. They develop specific food processing to degrade lignocelluloses gradually with the cooperation of symbiotic microbes. Younger workers ingest food foraged by older workers together with nodules of symbiotic fungi from combs, and excrete primarily feces to establish fresh combs on the surface of combs. In the gut passage of younger workers, *Termitomyces* release lignin-degrading enzymes to break the lignin barrier. Then, microbes including *Termitomyces* decompose lignin further, and turn polysaccharides to short chains, making the substrates of combs degraded from bottom to top. Finally, mature combs in the bottom are consumed by older workers. Endogenous enzymes of the midgut and microbes in the hindgut utilize the short chains. In conclusion, fungus combs and their microbes are fundamental for fungus-cultivating termites to utilize lignocelluloses efficiently. Studies of chemical changes in fungus comb indicated that fungus comb can decompose lignocelluloses and detoxify plant secondary compounds. *Termitomyces* might play a role in these processes, but the efficiency and specific functions vary in different genera of symbiotic fungi. Meanwhile, the specific functions of comb microbes require further investigation. Unlike lower wood-feeding termites which utilize lignocelluloses with the assistance of symbiotic microbes in the hindgut, fungus-cultivating termites degrade lignocelluloses based on fungus comb with two advantages, no requirement for anaerobic environment and fewer limits of food types. Imitation of fungus comb to process lignocelluloses is of great significance for the recycling use of dead wood and fallen leaves in forests.

Key words: Fungus-cultivating termite; fungus comb; microbe; lignocellulose; symbiotic fungus

白蚁及其共生微生物协同降解富含木质纤维素的植物细胞壁的机理一直被世界各国科学家所关注。近年来,随着木质纤维素生物炼制工业的兴起,仿生学习自然界中高效利用木质纤维素的生物系统,从中挖掘相关酶系和菌系资源逐渐成为研究热点。白蚁作为自然界中高效利用木质纤维素的一类生物,人们已从其体内及其共生微生物中筛选出了一些热稳定性高、pH 适用范围宽、可耐受产物抑制的微生物制剂和酶制剂 (Dheeran *et al.*, 2012; Uchima *et al.*, 2012; Otagiri *et al.*, 2013),并将其用于农林废弃物的转化生产。

白蚁是热带和亚热带地区重要的森林昆虫,目前全世界已知近 3 000 种 (Brune, 2014)。根据后肠原生动物的有无,它们可分为低等白蚁和高等白蚁两类;根据所取食食物在腐殖化梯度 (humification gradient) 中的位置及其消化系统的形态特征,它们可分为四大类群 (杨锦锦等, 2015) (表 1)。至今为止,国内外科学家从内源性纤维素酶系 (Fujita *et al.*, 2010)、肠道共生微生物代谢潜能 (Sethi *et al.*, 2013; Karl and Scharf, 2015; Scharf, 2015; Su *et*

al., 2016, 2017; Ali *et al.*, 2017)、白蚁生殖发育机制 (Weil *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2015) 及分子系统发育 (丁俊杰等, 2014) 等方面对低等白蚁进行了系统性的研究,取得了突出的成果。研究表明,低等白蚁主要依靠白蚁自身及其肠道内共生的原虫来实现木质纤维素的降解 (Tartar *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2012)。高等白蚁体内无原虫共生 (李丹红等, 2017),但相比于低等白蚁,其食性更加多样化。根据食性的不同,高等白蚁大致可分为高等食土白蚁 (Group III 和 Group IV)、高等食木白蚁 (Group II) 和高等培菌白蚁 (Group II) (表 1) (Brune, 2014)。其中,高等食木白蚁主要以阔叶树材为食,高等培菌白蚁不仅可取食针叶和阔叶树材,还取食灌木、草、枯枝落叶和植食性动物的粪便等 (Krishna *et al.*, 2013; da Costa *et al.*, 2019)。现已知的培菌白蚁类群均属大白蚁亚科,共有 11 个属 (Krishna *et al.*, 2013)。

培菌白蚁借助其外共生系统——“菌圃”对多种植物的木质纤维素材料进行流式处理 (即菌圃对基质进行处理的过程中,不断有新的基质补充成为上层菌圃,处在菌圃下层已处理完毕的基质被白蚁

表 1 白蚁食性类群
Table 1 Termite feeding groups

食性类群 ¹ Feeding group	食性简要描述 ² Brief description of feeding preferences	肠道区域化情况 ³ Gut compartmentation
低等白蚁 Lower termites		
类群 I Group I	食木:除草白蚁科包含食草种类外,该类群内其他科均为木食性。	低等食木白蚁(类群 I):肠道结构较简单,可分为 C, M, P3, P4 和 P5 5 部分(按食物经过肠道的先后顺序排列),P3 为膨大部分。pH 维持在中性附近。P3 处于厌氧状态,伴随着氢气的产生和利用。
高等白蚁 Higher termites		
类群 II Group II	食木:取食木头,干草,落叶,以及微型附生植物。其中培菌白蚁,可被视作一个独立的食性类群——食真菌类群。	高等食木白蚁(类群 II):肠道结构相对低等白蚁复杂且更长,肠道可分为 C, M, ms, P1, P3, P4 和 P5 7 部分(排列顺序同上),P3 为膨大部分。pH 在 ms 陡增,除 ms, P1 和部分 M 呈碱性外,其他部分在中性附近。P3 处于厌氧状态,伴随着氢气的产生和利用。 培菌白蚁(类群 II):肠道结构和理化环境与低等食木白蚁相似,但在 M 仍存在相对较高的氧气分压,P3 中的氢分压相对较高。
类群 III Group III	食腐殖质:伪食土白蚁,取食高度腐朽、结构被彻底破坏的木头(土壤状,富含有机质)或富含有机质的土壤。	高等食土白蚁(类群 III 和 IV):肠道结构最为复杂且更长,可分为 C, M, ms, P1, P3, P4 和 P5 7 部分(排列顺序同上),但与相比高等食木白蚁有两个膨大的部分,P1 和 P3。pH 波动较大,在 ms 陡增。pH 从 C 到 P1 由弱酸性升高至极碱性,随后逐渐回落至弱酸性。P1, P3 和部分 P4 为厌氧环境,氢气在 ms 和 P3 被产生和利用,但这两处氢气的分压相比其他白蚁 P3 的要低。
类群 IV Group IV	食土:真食土白蚁,取食二氧化硅含量高,有机质含量低的土壤。	

¹根据其所取食食物在腐殖化梯度中的位置,结合白蚁消化系统形态特征,对其进行分类。腐殖化顺序为:微型附生植物,新鲜枝干和根,干草,枯叶,枯木,严重腐朽表面覆土的腐木,腐殖质,以及(明显矿化的)土壤(Eggleton, 2011)。The feeding groups were classified according to the position of the forage in humification gradient, and gut structure. Order of humification; microepiphytes, living stems and roots, dry grass, dead leaves, dead wood, very decayed dead wood plastered with soil, humus and (apparently mineral) soil (Eggleton, 2011). ²由 Jones 和 Eggleton (2011) 及 Eggleton (2011) 总结。Summarized by Jones and Eggleton (2011) and Eggleton (2011). ³总结不同类型白蚁肠道区域化(肠道结构及不同肠道位置相应的理化状态)基于 Li 等(2012)及 Brune (2014)的工作。The gut compartmentation (gut structure and physiochemical condition across the gut) was summarized and mapped based on the studies of Li *et al.* (2012) and Brune (2014). C: 嗉囊 Crop; M: 中肠 Midgut; ms: 过渡段 Mixed segment; P1 – P5: 后肠分节 Proctodeal segments.

取食,从而使处理过程持续不断),研究清楚菌圃微生物处理基质的功能对模拟菌圃降解木质纤维素具有重要意义。本文综述了菌圃微生物降解木质纤维素的研究进展,以期为深入研究菌圃中木质纤维素降解过程及其机制,并挖掘利用菌圃降解木质纤维素的能力及仿生模拟菌圃开发新的生物质利用系统提供参考。

1 培菌白蚁对木质纤维素食物的降解策略

培菌白蚁在其巢内利用由植物材料修建的多孔海绵状结构——“菌圃”来培养共生真菌鸡枞菌 *Termitomyces* spp.,形成了独特的木质纤维素食物降解和消化策略(图 1)。植物原料被外出觅食的老年工蚁搬回巢内后,先后经过了幼年工蚁的初步消化(primary digestion)、菌圃微生物对菌圃基质的降解

和老年工蚁的二次消化(secondary digestion) 3 个过程。(1)初步消化:幼年工蚁取食老年工蚁搬回的植物碎屑和菌圃上鸡枞菌的无性分生孢子,经肠道混合后快速排出初级粪便(primary feces)堆积在菌圃表面形成上层菌圃;(2)菌圃微生物对菌圃基质的降解:菌圃由幼年工蚁粪便自下而上堆积逐步形成,在菌圃微生物的作用下菌圃基质自下而上被逐步降解;(3)二次消化:老年工蚁以被充分降解的下层菌圃为食物,并排出终极粪便(final feces) (Li *et al.*, 2015)。

2 木质纤维素在培菌白蚁消化系统中的时空变化

2.1 木质素屏障在初步消化阶段被打破
木质纤维素由纤维素、半纤维素和木质素组成。纤维素微纤维(cellulose microfibril, CMF)先由半纤

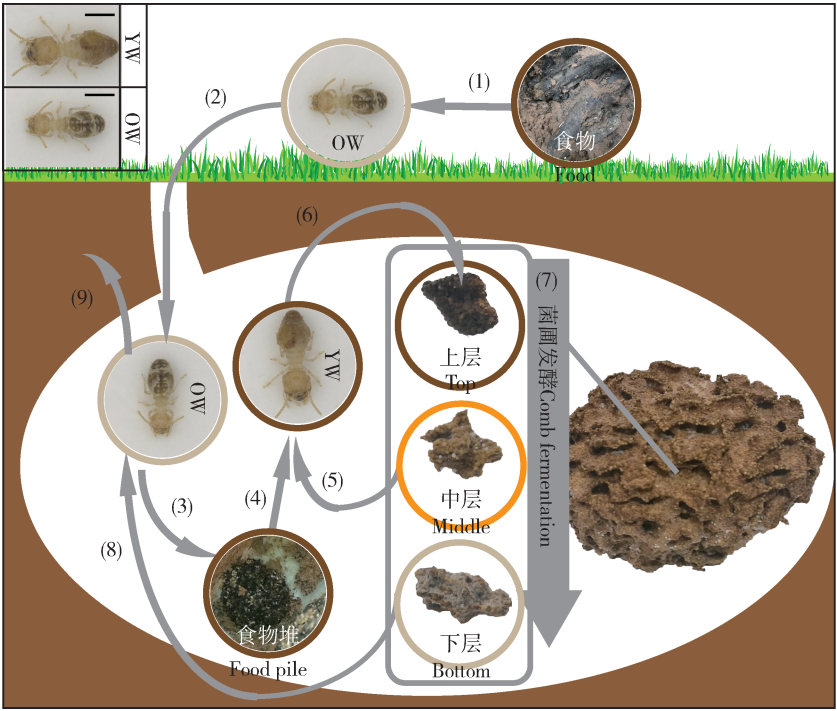


图 1 培菌白蚁黑翅土白蚁的食物处理策略

Fig. 1 Food processing in fungus-cultivating termite, *Odontotermes formosanus*

(1), (2), (3): 觅食, 老年工蚁觅食并将食物堆积在巢内 Food forage, old workers forage food and pile the food in the colony; (4), (5), (6): 初步消化, 幼年工蚁取食食物和 中层茵圃上的共生真菌小白球并排出初级粪便到茵圃表面建立新鲜茵圃 Primary digestion, young workers ingest food together with nodules of symbiotic fungus from middle-aged fungus comb and excrete primarily feces to establish fresh comb on the surface of comb; (7): 茵圃发酵, 随着共生真菌在茵圃中生长, 茵圃逐渐成熟 Comb fermentation, symbiotic fungus grows in comb when comb ferments from fresh to mature; (8), (9): 二次消化, 老年工蚁取食下层茵圃并排出最终粪便 Secondary digestion, old workers ingest mature comb and excrete final feces. YW: 幼年工蚁 Young worker; OW: 老年工蚁 Old worker. 标尺 Scale bar = 1 mm.

纤维素包裹, 形成纤维素微纤维薄片 (CMF lamellae), 这些薄片之间的缝隙再被木质素填充, 进而形成紧密坚硬的木质纤维素结构, 其中纤维素为最主要成分 (Watanabe and Tokuda, 2010)。因此, 要利用木质纤维素中的纤维素与半纤维素, 必须先打开木质素屏障。在培菌白蚁中, 木质纤维素材料最先通过幼年工蚁肠道消化并被排出堆积成新鲜的茵圃。研究发现, 黑翅土白蚁 *Odontotermes formosanus* 幼年工蚁取食的木质纤维素材料在其肠道中短暂逗留 (约 3.5 h) 后被排出 (即为上层茵圃) (Li *et al.*, 2017)。显微研究结果表明, 被排出的初级粪其木质素侧链已被大量剪切, 木质素结构已被显著解聚, 只留下了几乎完全没有聚合的残基, 从而使包裹纤维素和半纤维素的木质素屏障被打开 (Li *et al.*, 2017)。

利用基因组学、元基因组学等手段对培菌白蚁自身、肠道菌和蚁巢鸡枞菌的木质纤维素水解酶系进行的系统研究表明: 蚁巢共生的鸡枞菌可分泌漆酶、木质素过氧化物酶等可解聚包裹在植物多糖外

木质素结构的酶系 (Zhou *et al.*, 2010) 和大量纤维素外切酶、纤维素内切酶、木聚糖内切酶等剪切植物多糖长链或主链的酶系 (Poulsen *et al.*, 2014); 白蚁中肠可分泌 β -1,4-葡聚糖内切酶、 β -葡萄糖苷酶等酶系, 来进一步剪切经鸡枞菌预处理后的植物原料 (Wu *et al.*, 2012; Ni *et al.*, 2014); 培菌白蚁肠道细菌系统中剪切纤维素长链及半纤维素主链的酶系较少, 但富含 β -葡萄糖苷酶、 β -甘露糖苷酶等剪切纤维素短链或半纤维素侧链的下游降解酶系 (Liu *et al.*, 2013; Poulsen *et al.*, 2014)。这说明幼年工蚁对食物的初步消化不只是简单地将食物与共生真菌的分生孢子打碎、混和, 而是其取食的共生真菌可能为肠道内食物中木质素的解构提供了相关的酶 (Nobre *et al.*, 2011b)。共生真菌的分生孢子与寄主肠道的酶在组成和活力上相似也进一步印证了这一观点 (da Costa *et al.*, 2018)。

2.2 木质纤维素在培菌白蚁茵圃中的转化
在茵圃中, 木质纤维素随着时间的推进而发生进一步的降解。茵圃自下而上堆积而成, 不同高度

的菌圃其发酵的时间不同。利用固体核磁 (solid-state NMR)、二维液体核磁 (liquid-state 2D NMR)、热裂解气相色谱-质谱 (Py-GC-MS)、高效阴离子交换色谱 (HPAEC) 等手段, 对不同高度菌圃中木质纤维素的组成所做的分析表明: 随着菌圃成熟, 木质素逐步降解, 纤维素及半纤维素的相对含量保持稳定或部分减少 (Mathew *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2017; da Costa *et al.*, 2018)。因此, 老年工蚁自身及其肠道微生物提供的纤维素酶系 (Wu *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013; Ni *et al.*, 2014; Poulsen *et al.*, 2014) 能协同发挥作用, 对取食的下层菌圃 (无木质素屏障且富含纤维素) 进行消化利用。

芬顿反应 (Fenton reaction) 在低等白蚁及其他昆虫肠道中得到证实 (Schuurman, 2005)。该反应利用亚铁离子作为催化剂, 将双氧水转变为更具活性的氧自由基, 可能在肠道降解木质纤维素中的富含芳香基团的木质素成分时发挥了一定的作用。对鸡枞菌 RNA 测序时, 发现了一些能启动芬顿反应的 Auxiliary Activity (AA) 基因家族 (da Costa *et al.*, 2018), 但这些基因的具体功能及芬顿反应在菌圃中是否发生还有待进一步研究。

以上信息表明, 培菌白蚁转化利用木质纤维素是通过“蚁巢菌圃微生物-白蚁-肠道菌”这一共生体系的协同作用分步完成的 (Poulsen *et al.*, 2014)。其中, 幼年工蚁将菌圃上共生真菌小白球与食物一同消化的过程中, 共生真菌释放木质素降解酶对包裹在植物多糖外部的木质素屏障进行解聚; 菌圃微生物 (包括共生真菌) 对解聚的木质素基团进一步降解时, 将多糖长链或主链剪切成短链, 使新鲜的上层菌圃转变为老熟的下层菌圃; 老年工蚁取食下层菌圃后, 中肠的内源酶系及后肠微生物将这些短链进一步剪切和利用。因此, 蚁巢菌圃及其微生物是培菌白蚁高效转化利用木质纤维素的基础。

3 菌圃微生物的组成及来源

3.1 菌圃微生物的组成

在真菌组成上, 鸡枞菌是正常条件下培菌白蚁菌圃中唯一可见的真菌, 炭角菌 *Xylaria* 则出现在被废弃的菌圃上 (Long *et al.*, 2010)。利用独立培养法及分子鉴定技术, Mathew 等 (2012) 发现在黑翅土白蚁的菌圃中还存在着念珠菌 *Candida*、毕赤酵母 *Pichia*、木霉菌 *Trichoderma* 等真菌。在细菌组成上, 菌圃中的细菌主要由厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌

门 (Bacteroidetes)、变形杆菌门 (Proteobacteria) 组成, 不同成熟度的菌圃其细菌微生物群落存在显著差异 (Li *et al.*, 2016; Otani *et al.*, 2016)。

3.2 菌圃微生物的来源

对于培菌白蚁的共生真菌, 除在大白蚁属中的可可大白蚁 *Macrotermes bellicosus* 及小白蚁属中发现其属于垂直传播 (即由婚飞蚁携带传播) 外 (Nobre *et al.*, 2011a), 其他培菌白蚁均是通过水平传播 (Aanen *et al.*, 2007)。Aanen (2006) 认为在成熟的蚁巢中共生真菌应为单培养, 即一个蚁巢仅存在一种共生真菌。共生真菌在蚁巢内的增殖主要依赖于幼年工蚁在肠道中将菌圃上的小白球 (由共生真菌菌丝组成) 与食物混合, 重新接种到菌圃上, 产生新的小白球供工蚁接种, 从而构成闭环。能够产生小白球的共生真菌种类在工蚁的主动筛选 (取食小白球) 中被保留下来, 不能产生小白球的共生真菌种类逐渐被淘汰。木质纤维素材料由年轻工蚁肠道消化, 然后排出到菌圃上成为新的菌圃, 因此工蚁肠道细菌可能为菌圃细菌的组成作出了一定的贡献。4 种培菌白蚁的菌圃及工蚁肠道细菌微生物群落的对比结果显示 (Otani *et al.*, 2016), 菌圃中细菌与工蚁肠道中的细菌高度重合; 同时, 肠道微生物结构稳定, 而菌圃中的细菌微生物群落虽在丰度上有所差异但在组成上稳定, 说明菌圃中的细菌主要来自于工蚁肠道, 同时环境因素影响菌圃中这些细菌的丰度。

3.3 不同属培菌白蚁共生微生物比较

图 2 对不同属培菌白蚁的共生微生物进行了总结。在共生真菌分布上, 不同属的白蚁呈现出一定的特异性, 某些种只出现在特定的一个或几个属的白蚁中, 如橙红鸡枞菌 *Termitomyces aurantiacus* 仅存在于伪刺白蚁属巢内; 同时, 不同属的白蚁对共生真菌也有不同的选择, 如土白蚁属能成为相当多共生真菌的寄主。在细菌分布方面, 目前仅研究过大白蚁属、小白蚁属和土白蚁属 3 个属白蚁的菌圃与肠道。从门水平上来看, 丰度较高的肠道细菌与菌圃细菌在不同属白蚁间存在一定的差异。不同属培菌白蚁共生微生物的差异暗示了不同属白蚁共生微生物的功能可能存在一定差异。

4 菌圃微生物在木质纤维素降解过程中的作用

培菌白蚁内源酶系及肠道微生物主要负责消化

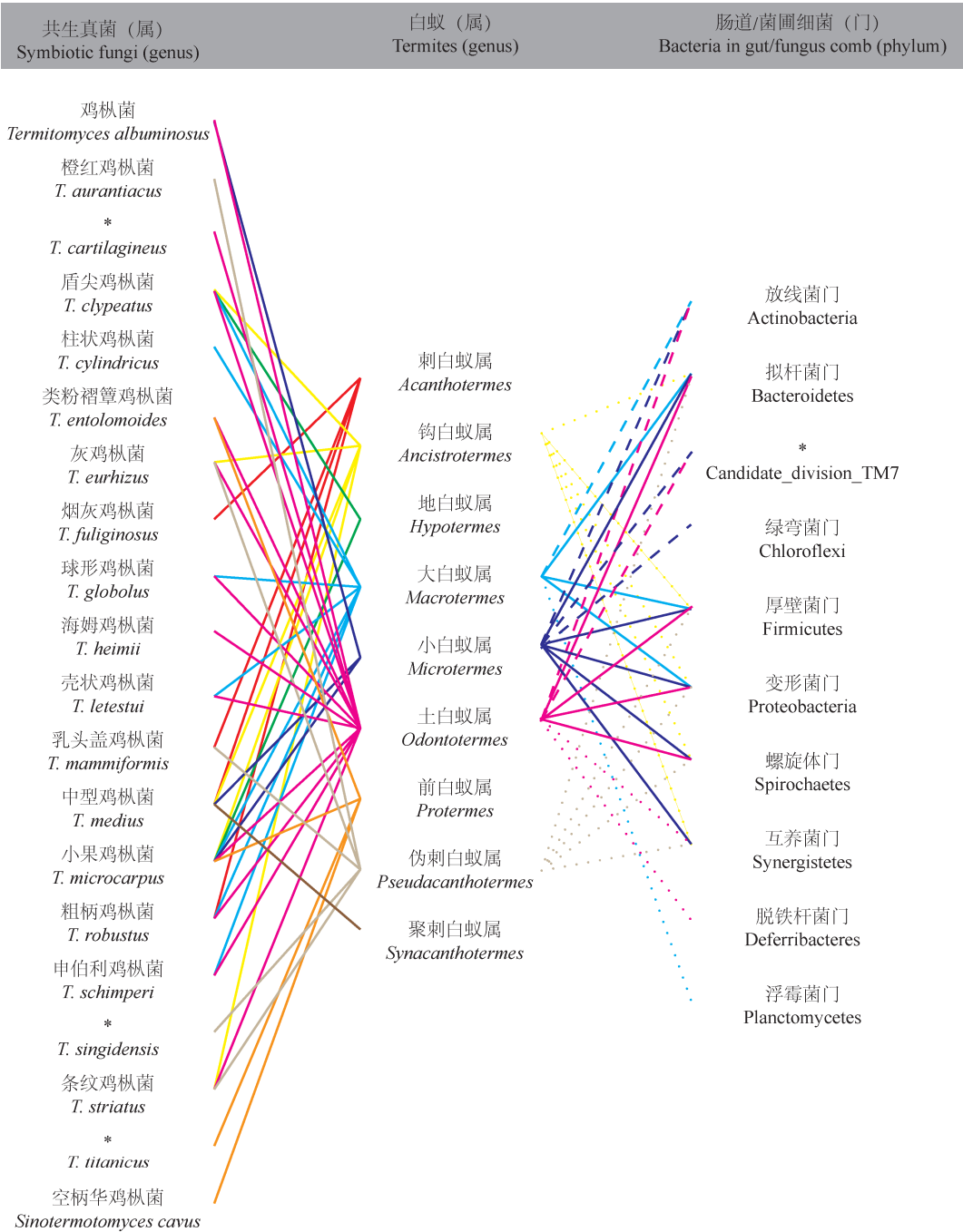


图2 9个属培菌白蚁的相关共生微生物

Fig. 2 Symbiotic microbes in nine genera of fungus-cultivating termites

共生真菌与白蚁的关系:实线连接的共生真菌与白蚁存在共生关系 (Wood and Thomas, 1989; Pegler and Vanhaecke, 1994; Aanen *et al.*, 2002; Frøslev *et al.*, 2003);共生真菌的中文学名参考付子艳和李荣春(2009)。Relationship between symbiotic fungi and termites: symbiotic relationship exists between symbiotic fungi and termites connected with solid line (Wood and Thomas, 1989; Pegler and Vanhaecke, 1994; Aanen *et al.*, 2002; Frøslev *et al.*, 2003). The Chinese scientific names of symbiotic fungi referred to Fu and Li (2009). 肠道/菌圃细菌与白蚁的共生关系:以实线表示该门细菌在对应属白蚁的肠道及菌圃中的丰度>5%,以圆点构成的虚线表示该门细菌仅在对应属白蚁肠道中的丰度>5%;以方块构成的虚线表示该门细菌仅在对应属白蚁菌圃中的丰度>5% (Zhu, 2012; Otani *et al.*, 2014, 2016)。Gut/comb bacteria associated with termites: the solid line indicates that the abundance of bacteria from the phylum is above 5% both in the termite gut and the fungus comb; the dashed line with dots indicates that the abundance of bacteria from the phylum is above 5% in the termite gut; the dashed line with cubes indicates that the abundance of bacteria from the phylum is above 5% in the fungus comb (Zhu, 2012; Otani *et al.*, 2014, 2016). * 表示无相应中文名 No corresponding Chinese name.

“木质素高度解聚、降解及植物多糖长链被剪切成短链”的下层菌圃,共生真菌则在初步消化阶段对木质素进行了解聚,菌圃细菌及共生真菌可能在木质素的进一步降解和植物多糖长链的剪切中共同发挥了作用。显然,菌圃微生物在降解木质纤维素的过程中发挥了主要的作用。

4.1 植物次生物质和纤维化学结构是昆虫取食植物的两大障碍

在长期进化过程中,植物形成了复杂的化学防御屏障,可产生原花青素、单宁等多种次生物质来防御植食性昆虫的取食。同时,植食性昆虫进化出碱性的肠道环境、P450 等解毒酶系及依靠共生微生物脱毒等解毒机制来适应寄主植物的次生物质(Niu *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2014)。因此,大多数昆虫对非寄主植物的次生物质非常敏感,趋向于取食特定的植物种类或植物器官而形成专食性。此外,鉴于植物纤维原料的化学组分和结构具有多样性和不均一性,即植物的种类不同,甚至同一植物的不同器官(如根、茎、叶等),它们的化学组分包括半纤维素骨架的单糖组成和木质素的芳香族单体都差异巨大,而单体间化学键的连接方式也极为多样(Mansfield *et al.*, 2012)。植物纤维原料的化学结构特征对植食性昆虫和共生微生物转化利用木质纤维素来满足自身的营养需求造成了屏障,这也是导致昆虫专食性的因子之一。总体说来,植物的次生物质和植物纤维原料的化学结构是昆虫取食植物的两大障碍,植食性昆虫对寄主植物的特化,取决于它对植物次生物质的适应程度和对植物纤维原料的利用能力(Knolhoff and Heckel, 2014)。

4.2 菌圃微生物降解植物纤维化学结构

鸡枞菌作为健康菌圃上唯一可见的真菌,其降解木质纤维素的能力受到广泛关注。不同属白蚁的共生鸡枞菌在酶系类型和活性上都差异显著,与伪刺白蚁属的 *Pseudacanthotermes spiniger* 共生的灰鸡枞菌 *Termitomyces eurhizus*,表现出很高的淀粉酶活性;而与大白蚁属的可可大白蚁 *M. bellicosus* 共生的盾尖鸡枞菌 *T. clypeatus*,则表现出高的木聚糖酶活性和纤维素酶活性(Rouland-LeFèvre *et al.*, 2006)。这说明鸡枞菌可能对宿主白蚁提供的植物纤维原料具有特定要求。将同种真菌接种到含不同属白蚁菌圃粉的培养基上进行培养后,发现真根鸡枞菌等鸡枞菌属的菌株可随底物改变而产生不同的糖基水解酶,而与大白蚁属白蚁共生的盾尖鸡枞菌在不同底物条件下则产生相对稳定的糖基水解酶

(Rouland-LeFèvre *et al.*, 2006)。这些研究说明鸡枞菌属的不同菌株在糖基水解酶的分泌表达(诱导型表达和组成型表达)机制上存有差异。同时,Hyodo 等(2003)的研究结果表明,大白蚁与另外 3 种白蚁的菌圃在多糖与木质素比例的变化规律上差异显著,但具体是哪些微生物导致了这些差异还有待进一步的研究。

4.3 菌圃微生物降解植物次生物质

在多个属的培菌白蚁菌圃及从菌圃中分离得到的鸡枞菌中均检测到漆酶活性和表达(Taprab *et al.*, 2005; da Costa *et al.*, 2018)。据报道,漆酶的底物包括芳香族化合物、金属离子及金属有机化合物(Mate and Alcalde, 2017),这说明鸡枞菌及菌圃具有降解酚类物质的潜力。然而,菌圃中是否还存在其他细菌发挥类似生物学功能目前还不清楚。对于菌圃原位降解次生物质的研究,也仅有 Johjima 等(2003)对暗黄大白蚁 *M. gilvus* 菌圃及其蚁巢周围落叶的酚类次生物质进行过对比研究,结果显示菌圃上层的酚类物质含量低于蚁巢周围的落叶,下层成熟菌圃的酚类物质含量比上层菌圃低 40%,从化学层面证明大白蚁的菌圃微生物有降解酚类次生物质的功能。

共生真菌可能在菌圃的植物纤维化学结构和植物次生物质的降解中发挥了作用,但不同属共生真菌间其效率和具体功能不尽相同。同时,菌圃原位化学检测并不能证明植物纤维化学结构和植物次生物质的降解是否全部由共生真菌完成,菌圃中的细菌是否发挥了作用和哪些细菌类群发挥了作用等仍有待进一步的研究。

5 小结与展望

培菌白蚁依靠其独特的年龄分工的食物处理策略,通过建立外共生系统-菌圃,与其共生真菌鸡枞菌建立了共生关系,可有效地利用从环境中种类众多且富含木质纤维素的食物。菌圃作为培菌白蚁的外共生系统,在食物处理过程中发挥了重要作用。

国内外学者对高等培菌白蚁所做的大量生物学观察结果表明,林地生态系统中大白蚁属和土白蚁属这两种培菌白蚁在食性上差异显著,例如黄翅大白蚁 *M. barneyi* 喜食阔叶类板栗、檫木等乔木和杜鹃等灌木的落叶,黑翅土白蚁 *O. formosanus* 则不太喜欢取食乔木和灌木的落叶而喜食立木树皮和枯枝(Eggleton *et al.*, 1996)。显然,这两类食料在成分

组成等特征方面存在较大差异。研究比较不同食性偏好的培菌白蚁的菌圃微生物,能进一步加深人们对菌圃微生物功能的理解。宏标记(metabarcoding)技术能够对含多物种的环境 DNA (environmental DNA)进行鉴定(Thomsen and Willerslev, 2015),将其应用于白蚁肠道及菌圃,能确定白蚁取食的植物到科、属甚至种的水平,从而进一步探明不同培菌白蚁取食是否存在偏好性及其内在机理(da Costa *et al.*, 2019)。同时,培菌白蚁营地下巢穴、样品采集困难、不易室内饲养等,目前研究培菌白蚁大多基于野外挖巢、收集样品并立即冻存,然后回实验室开展后续研究,这极大地限制了菌圃微生物的功能研究。因为工蚁外出觅食植物原料构建蚁巢菌圃的过程中,因季节、工蚁觅食场所等差异所获得的植物纤维原料存在不均一性,可能导致菌圃基质中含有多种植物原料,进而为后续的平行比较研究带来困难。培菌白蚁室内饲养平台的建立(Li *et al.*, 2015),为利用单一植物原料喂养白蚁来原位研究不同培菌白蚁的菌圃微生物的功能打下了良好的技术基础。由于在培菌白蚁巢中存在的鸡枞菌是单一物种,解析白蚁降解植物生物质过程中菌圃及肠道细菌各个类群扮演的角色较为困难,如果将获得的高质量细菌宏基因组通过肽模式识别(peptide pattern recognition)来预测其相关功能(da Costa *et al.*, 2019),并将其与菌圃中化学组分的变化联系起来,进而分析哪些细菌类群在木质纤维素材料降解过程中发挥了哪些作用,就可在细菌的功能研究方面取得突破性的进展。

与低等食木白蚁的主要消化场所——后肠苛刻的厌氧环境相比,菌圃微生物可在非厌氧环境下对木质纤维素材料进行降解,这是仿生模拟菌圃利用木质纤维素的一大优势。培菌白蚁丰富的食性也暗示着其菌圃对不同植物材料的处理能力,这也是仿生模拟菌圃利用木质纤维素的另一大优势。枯落叶和枯落枝在林地表面的森林凋落物生物量中所占比例巨大,一般枯落叶所占比例为 49.6% ~ 100.0%; 枯落枝所占比例为 0 ~ 37% (侯玲玲等, 2013)。若能仿生模拟菌圃对这些种类繁多的植物材料进行利用,就可为林地表面枯枝落叶的资源化提供新的思路。

参考文献 (References)

Aanen DK, 2006. As you reap, so shall you sow: coupling of harvesting and inoculating stabilizes the mutualism between termites and fungi. *Biol. Lett.*, 2(2): 209 – 212.

Aanen DK, Eggleton P, Rouland-LeFèvre C, Guldberg-Frøslev T, Rosendahl S, Boomsma JJ, 2002. The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(23): 14887 – 14892.

Aanen DK, Ros VID, de Fine Licht HH, Mitchell J, de Beer ZW, Slippers B, Rouland-LeFèvre C, Boomsma JJ, 2007. Patterns of interaction specificity of fungus-growing termites and *Termitomyces* symbionts in South Africa. *BMC Evol. Biol.*, 7: 115.

Ali SS, Wu J, Xie RR, Zhou F, Sun JZ, Huang M, 2017. Screening and characterizing of xylanolytic and xylose-fermenting yeasts isolated from the wood-feeding termite, *Reticulitermes chinensis*. *PLoS ONE*, 12(7): e0181141.

Brune A, 2014. Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. *Nat. Rev. Microbiol.*, 12(3): 168 – 180.

da Costa RR, Hu HF, Li HJ, Poulsen M, 2019. Symbiotic plant biomass decomposition in fungus-growing termites. *Insects*, 10(4): 87.

da Costa RR, Hu HF, Pilgaard B, Vreeburg SME, Schuckel J, Pedersen KSK, Kracun SK, Busk PK, Harholt J, Sapountzis P, Lange L, Aanen DK, Poulsen M, 2018. Enzyme activities at different stages of plant biomass decomposition in three species of fungus-growing termites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 84(5): e01815-17.

Dheeran P, Nandhagopal N, Kumar S, Jaiswal YK, Adhikari DK, 2012. A novel thermostable xylanase of *Paenibacillus macerans* IIPSP3 isolated from the termite gut. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 39(6): 851 – 860.

Ding JJ, Yu M, Liu ZW, Quan YB, Pang ZP, Ping ZM, Wang JG, 2014. Advance of molecular identification in the genus *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Environ. Entomol.*, 36(2): 225 – 232. [丁俊杰, 喻敏, 刘志文, 权永兵, 庞正平, 平正明, 王建国, 2014. 乳白蚁属 *Coptotermes* 分子分类研究进展. 环境昆虫学报, 36(2): 225 – 232]

Eggleton P, 2011. An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. In: Bignell DE, Roisin Y, Lo N eds. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer Press, Netherlands. 1 – 26.

Eggleton P, Bignell DE, Sands WA, Mawdsley NA, Lawton JH, Wood TG, Bignell NC, 1996. The diversity, abundance and biomass of termites under differing levels of disturbance in the Mbalmayo Forest Reserve, southern Cameroon. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 351(1335): 51 – 68.

Frøslev TG, Aanen DK, Laessøe T, Rosendahl S, 2003. Phylogenetic relationships of *Termitomyces* and related taxa. *Mycol. Res.*, 107(11): 1277 – 1286.

Fu ZY, Li RC, 2009. Present research status of classification of *Termitomyces* and *Sinotermatomyces*. *Guihaia*, 29(1): 32 – 38. [付子艳, 李荣春, 2009. 鸡枞菌属与华鸡枞属分类研究现状. 广西植物, 29(1): 32 – 38]

Fujita A, Hojo M, Aoyagi T, Hayashi Y, Arakawa G, Tokuda G, Watanabe H, 2010. Details of the digestive system in the midgut of *Coptotermes formosanus* Shiraki. *J. Wood Sci.*, 56(3): 222 – 226.

Hinze B, Crailsheim K, Leuthold RH, 2002. Polyethism in food

- processing and social organisation in the nest of *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Termitidae). *Insectes Soc.*, 49: 31–37.
- Hou LL, Mao ZJ, Sun T, Song Y, 2013. Dynamic of litterfall in ten typical community types of Xiaoxing'an Mountain, China. *Acta Ecol. Sin.*, 33(6): 1994–2002. [侯玲玲, 毛子军, 孙涛, 宋元, 2013. 小兴安岭十种典型森林群落凋落物生物量及其动态变化. *生态学报*, 33(6): 1994–2002]
- Hyodo F, Tayasu I, Inoue T, Azuma JI, Kudo T, Abe T, 2003. Differential role of symbiotic fungi in lignin degradation and food provision for fungus-growing termites (Macrotermitinae; Isoptera). *Funct. Ecol.*, 17(2): 186–193.
- Johjima T, Ohkuma M, Kudo T, 2003. Isolation and cDNA cloning of novel hydrogen peroxide-dependent phenol oxidase from the basidiomycete *Termitomyces albuminosus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61(3): 220–225.
- Jones DT, Eggleton P, 2011. Global biogeography of termites: a compilation of sources. In: Bignell DE, Roisin Y, Lo N eds. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer Press, Netherlands. 477–498.
- Karl ZJ, Scharf ME, 2015. Effects of five diverse lignocellulosic diets on digestive enzyme biochemistry in the termite *Reticulitermes flavipes*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 90(2): 89–103.
- Knolhoff LM, Heckel DG, 2014. Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 59: 263–278.
- Krishna K, Grimaldi DA, Krishna V, Engel MS, 2013. Treatise on the Isoptera of the world. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 377: 1–2704.
- Li DH, Wang Y, Yang H, 2017. Gut microbiome of wood-feeding termites. *Acta Microbiol. Sin.*, 57(6): 876–884. [李丹红, 王誉, 杨红, 2017. 高效降解木质纤维素的白蚁肠道微生物组. *微生物学报*, 57(6): 876–884]
- Li HJ, Dietrich C, Zhu N, Mikaelyan A, Ma B, Pi RX, Liu Y, Yang MY, Brune A, Mo JC, 2016. Age polyethism drives community structure of the bacterial gut microbiota in the fungus-cultivating termite *Odontotermes formosanus*. *Environ. Microbiol.*, 18(5): 1440–1451.
- Li HJ, Sun JZ, Zhao JM, Deng TF, Lu JR, Dong Y, Deng W, Mo JC, 2012. Physicochemical conditions and metal ion profiles in the gut of the fungus-growing termite *Odontotermes formosanus*. *J. Insect Physiol.*, 58(10): 1368–1357.
- Li HJ, Yang MY, Chen YG, Zhu N, Lee CY, Wei JQ, Mo JC, 2015. Investigation of age polyethism in food processing of the fungus-growing termite *Odontotermes formosanus* (Blattodea; Termitidae) using a laboratory artificial rearing system. *J. Econ. Entomol.*, 108(1): 266–273.
- Li HJ, Yelle DJ, Li C, Yang MY, Ke J, Zhang RJ, Liu Y, Zhu N, Liang SY, Mo XC, Ralph J, Currie CR, Mo JC, 2017. Lignocellulose pretreatment in a fungus-cultivating termite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114(18): 4709–4714.
- Liu N, Zhang L, Zhou HK, Zhang ML, Yan X, Wang Q, Long YH, Xie L, Wang SY, Huang YP, Zhou ZH, 2013. Metagenomic insights into metabolic capacities of the gut microbiota in a fungus-cultivating termite (*Odontotermes yunnanensis*). *PLoS ONE*, 8(7): e691847.
- Long YH, Xie L, Liu N, Yan X, Li MH, Fan MZ, Wang QA, 2010. Comparison of gut-associated and nest-associated microbial communities of a fungus-growing termite (*Odontotermes yunnanensis*). *Insect Sci.*, 17(3): 265–276.
- Mansfield SD, Kim H, Lu FC, Ralph J, 2012. Whole plant cell wall characterization using solution-state 2D NMR. *Nat. Protoc.*, 7(9): 1579–1589.
- Mate DM, Alcalde M, 2017. Laccase: a multi-purpose biocatalyst at the forefront of biotechnology. *Microb. Biotechnol.*, 10(6): 1457–1467.
- Mathew GM, Ju YM, Lai CY, Mathew DC, Huang CC, 2012. Microbial community analysis in the termite gut and fungus comb of *Odontotermes formosanus*; the implication of *Bacillus* as mutualists. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 79(2): 504–517.
- Mathew GM, Mathew DC, Lo SC, Alexios GM, Yang JC, Sashikumar JM, Shaikh TM, Huang CC, 2013. Synergistic collaboration of gut symbionts in *Odontotermes formosanus* for lignocellulosic degradation and bio-hydrogen production. *Bioresour. Technol.*, 145: 337–344.
- Ni J, Wu Y, Yun C, Yu ML, Shen YL, 2014. cDNA cloning and heterologous expression of an endo-beta-1,4-glucanase from the fungus-growing termite *Macrotermes barneyi*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 86(3): 151–164.
- Niu GD, Rupasinghe SC, Zangerl AR, Siegel JP, Schuler MA, Berenbaum MR, 2011. A substrate-specific cytochrome P450 monooxygenase, CYP6AB11, from the polyphagous navel orangeworm (*Amyelois transitella*). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 41(4): 244–253.
- Nobre T, Fernandes C, Boomsma JJ, Korb J, Aanen DK, 2011a. Farming termites determine the genetic population structure of *Termitomyces* fungal symbionts. *Mol. Ecol.*, 20(9): 2023–2033.
- Nobre T, Rouland-LeFèvre C, Aanen DK, 2011b. Comparative biology of fungus cultivation in termites and ants. In: Bignell DE, Roisin Y, Lo N eds. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer Press, Netherlands. 193–210.
- Otagiri M, Lopez CM, Kitamoto K, Arioka M, Kudo T, Moriya S, 2013. Heterologous expression and characterization of a glycoside hydrolase family 45 endo-beta-1,4-glucanase from a symbiotic protist of the lower termite, *Reticulitermes speratus*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 169(6): 1910–1918.
- Otani S, Hansen LH, Sorensen SJ, Poulsen M, 2016. Bacterial communities in termite fungus combs are comprised of consistent gut deposits and contributions from the environment. *Microb. Ecol.*, 71(1): 207–220.
- Otani S, Mikaelyan A, Nobre T, Hansen LH, Kone NA, Sorensen SJ, Aanen DK, Boomsma JJ, Brune A, Poulsen M, 2014. Identifying the core microbial community in the gut of fungus-growing termites. *Mol. Ecol.*, 23(18): 4631–4644.
- Pegler DN, Vanhaecke M, 1994. *Termitomyces* of Southeast Asia. *Kew Bull.*, 49(4): 717–736.
- Poulsen M, Hu HF, Li C, Chen ZS, Xu LH, Otani S, Nygaard S,

- Nobre T, Klaubauf S, Schindler PM, Hauser F, Pan HL, Yang ZK, Sonnenberg ASM, de Beer ZW, Zhang Y, Wingfield MJ, Grimmelikhuijzen CJP, de Vries RP, Korb J, Aanen DK, Wang J, Boomsma JJ, Zhang GJ, 2014. Complementary symbiont contributions to plant decomposition in a fungus-farming termite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(40): 14500–14505.
- Rouland-LeFèvre C, Inoue T, Johjima T, 2006. Termitomyces/termite interactions. In: König H, Varma A eds. *Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates*. Soil Biology, Vol. 6. Springer Press, Berlin. 335–350.
- Scharf ME, 2015. Omic research in termites: an overview and a roadmap. *Front. Genet.*, 6: 76.
- Schuurman G, 2005. Decomposition rates and termite assemblage composition in semiarid Africa. *Ecology*, 86(5): 1236–1249.
- Sethi A, Slack JM, Kovaleva ES, Buchman GW, Scharf ME, 2013. Lignin-associated metagenome expression in a lignocellulose-digesting termite. *Insect Biochem. Molec., Biol.*, 43(1): 91–101.
- Su LJ, Yang LL, Huang S, Li Y, Su X, Wang FQ, Bo CP, Wang ET, Song AD, 2017. Variation in the gut microbiota of termites (*Tsaiitermes ampliceps*) against different diets. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 181(1): 32–47.
- Su LJ, Yang LL, Huang S, Su XQ, Li Y, Wang FQ, Wang ET, Kang N, Xu J, Song AD, 2016. Comparative gut microbiomes of four species representing the higher and the lower termites. *J. Insect Sci.*, 16(1): 97.
- Su XH, Xue W, Liu H, Chen JL, Zhang XJ, Xing LX, Liu MH, 2015. The development of adultoid reproductives and brachypterous neotenic reproductives from the last instar nymphs in *Reticulitermes labralis* (Isoptera: Rhinotermitidae): a comparative study. *J. Insect Sci.*, 15(1): 147.
- Taprab Y, Johjima T, Maeda Y, Moriya S, Trakulnaleamsai S, Noparatnaraporn N, Ohkuma M, Kudo T, 2005. Symbiotic fungi produce laccases potentially involved in phenol degradation in fungus combs of fungus-growing termites in Thailand. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12): 7696–7704.
- Tartar A, Wheeler MM, Zhou XG, Coy MR, Boucias DG, Scharf ME, 2009. Parallel metatranscriptome analyses of host and symbiont gene expression in the gut of the termite *Reticulitermes flavipes*. *Biotechnol. Biofuels*, 2: 25.
- Thomsen PF, Willerslev E, 2015. Environmental DNA – an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol. Conserv.*, 183: 4–18.
- Uchima CA, Tokuda G, Watanabe H, Kitamoto K, Arioka M, 2012. Heterologous expression in *Pichia pastoris* and characterization of an endogenous thermostable and high-glucose-tolerant beta-glucosidase from the termite *Nasutitermes takasagoensis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(12): 4288–4293.
- Watanabe H, Tokuda G, 2010. Cellulolytic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 55: 609–632.
- Weil T, Rehli M, Korb J, 2007. Molecular basis for the reproductive division of labour in a lower termite. *BMC Genomics*, 8: 198.
- Wood TG, Thomas RJ, 1989. The mutualistic association between Macrotermitinae and *Termitomyces*. In: Wilding N, Collins NM, Hammond PM, Webber JF eds. *Symposium of the Royal Entomological Society*, Vol. 14. Academic Press, San Diego. 69–92.
- Wu Y, Chi S, Yun C, Shen Y, Tokuda G, Ni J, 2012. Molecular cloning and characterization of an endogenous digestive beta-glucosidase from the midgut of the fungus-growing termite *Macrotermes barneyi*. *Insect Mol. Biol.*, 21(6): 604–614.
- Xie L, Zhang L, Zhong Y, Liu N, Long YH, Wang SY, Zhou XG, Zhou ZH, Huang YP, Wang Q, 2012. Profiling the metatranscriptome of the protistan community in *Coptotermes formosanus* with emphasis on the lignocellulolytic system. *Genomics*, 99(4): 246–255.
- Xue J, Zhou X, Zhang CX, Yu LL, Fan HW, Wang Z, Xu HJ, Xi Y, Zhu ZR, Zhou WW, Pan PL, Li BL, Colbourne JK, Noda H, Suetsugu Y, Kobayashi T, Zheng Y, Liu S, Zhang R, Liu Y, Luo YD, Fang DM, Chen Y, Zhan DL, Lv XD, Cai Y, Wang ZB, Huang HJ, Cheng RL, Zhang XC, Lou YH, Yu B, Zhuo JC, Ye YX, Zhang WQ, Shen ZC, Yang HM, Wang J, Wang J, Bao YY, Cheng JA, 2014. Genomes of the rice pest brown planthopper and its endosymbionts reveal complex complementary contributions for host adaptation. *Genome Biol.*, 15(12): 521.
- Yang JJ, Ji BZ, Liu SW, Zhang XW, Wang HJ, Soleymaninejad E, Ding F, 2015. The functional classification of termites. *Sichuan J. Zool.*, 34(1): 149–154. [杨锦锦, 嵇保中, 刘曙雯, 张新慰, 汪洪江, Soleymaninejad E, 丁芳, 2015. 白蚁的功能分类. 四川动物, 34(1): 149–154]
- Zhou Y, Deng TF, Pan CY, Chen CR, Mo JC, 2010. Purification of a laccase from fungus combs in the nest of *Odontotermes formosanus*. *Process Biochem.*, 45(7): 1052–1056.

(责任编辑: 赵利辉)